РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 840 759**(13) **C1**

(51) МПК
G01N 33/58 (2006.01)
C12Q 1/6804 (2018.01)
G16B 20/20 (2019.01)
G16H 50/20 (2018.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/582 *(2025.01);* ***C12Q 1/6804*** *(2025.01);* ***G16B 20/20*** *(2025.01);* ***G16H 50/20*** *(2025.01)*

(21)(22) Заявка: **2024115714, 07.06.2024**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.06.2024

Дата регистрации:
28.05.2025

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **07.06.2024**

(45) Опубликовано: **28.05.2025** Бюл. № **16**

Адрес для переписки:
125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4, ФГБУ НМИЦГ МЗРФ, Паровичникова Елена Николаевна

(72) Автор(ы):
Капранов Николай Михайлович (RU),
Гапонова Татьяна Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр гематологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WO 2016026934 A1, 25.02.2016. US 2018225412 A1, 09.08.2018. US 10726941 B2, 28.07.2020. ЛОГИНОВА М.А. и др. Стратегия формирования регистра потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2020; 7(4): 35-42.**

(54) Способ оценки наличия неродственных доноров в виртуальном регистре произвольных размеров с прогнозированием возможности нахождения полностью или частично совместимого донора костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к гематологии и трансплантологии, и может быть использовано для оценки наличия неродственных доноров в виртуальном регистре произвольных размеров с прогнозированием возможности нахождения полностью или частично совместимого донора костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток для пациентов с известным набором аллелей локусов генов HLA. Осуществляют забор периферической крови пациента. Получают данные о наборе аллельных групп локусов гена HLA доноров с помощью молекулярно-биологических методов. Объединяют результаты HLA-генотипирования в объектно-ориентированную базу данных. Осуществляют выборку результатов об исследованных аллельных группах локусов гена HLA и определяют все возможные пары гаплотипов, из которых состоит генотип. Рассчитывают среднее значение частоты встречаемости для каждого гаплотипа. Формируют электронную таблицу гаплотипов с частотами встречаемости выше заданной. Генерируют виртуальные списки пар гаплотипов для сравнения с аллелями генотипа пациента. На основании полученных результатов соотнесения генотипа пациента с генотипами из виртуальных списков осуществляют прогнозирование вероятности найти доноров и среднее число найденных доноров. Способ обеспечивает возможность прогнозирования нахождения полностью или частично совместимого донора для пациентов с известным набором аллелей локусов генов HLA за счет формирования модельных виртуальных регистров произвольных размеров. 6 з.п. ф-лы, 6 ил., 9 табл., 3 пр.

RU 2840759 C1

RU 2840759 C1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 840 759**(13) **C1**

(51) Int. Cl.
G01N 33/58 (2006.01)
C12Q 1/6804 (2018.01)
G16B 20/20 (2019.01)
G16H 50/20 (2018.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
G01N 33/582 (2025.01); C12Q 1/6804 (2025.01); G16B 20/20 (2025.01); G16H 50/20 (2025.01)

(21)(22) Application: **2024115714, 07.06.2024**

(24) Effective date for property rights:
07.06.2024

Registration date:
28.05.2025

Priority:
(22) Date of filing: **07.06.2024**

(45) Date of publication: **28.05.2025** Bull. № **16**

Mail address:
125167, Moskva, Novyj Zykovskij pr-d, 4, FGBU NMITSG MZRF, Parovichnikova Elena Nikolaevna

(72) Inventor(s):
Kapranov Nikolai Mikhailovich (RU),
Gaponova Tatiana Vladimirovna (RU)

(73) Proprietor(s):
Federalnoe gosudarstvennoe biudzhetnoe uchrezhdenie «Natsionalnyi meditsinskii issledovatelskii tsentr gematologii» Ministerstva zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)

(54) METHOD FOR ASSESSING PRESENCE OF UNRELATED DONORS IN VIRTUAL REGISTER OF ARBITRARY SIZES WITH PREDICTING POSSIBILITY OF FINDING FULLY OR PARTIALLY COMPATIBLE DONOR OF BONE MARROW AND HAEMATOPOIETIC STEM CELLS

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to haematology and transplantation, and can be used to assess the presence of unrelated donors in a virtual register of arbitrary sizes with predicting the possibility of finding a completely or partially compatible bone marrow donor and haematopoietic stem cells for patients with a known set of alleles of loci of HLA genes. Patient's peripheral blood is sampled. Data on a set of allelic groups of HLA gene loci of donors is obtained using molecular biological methods. HLA genotyping results are combined into an object-oriented database. Results of the examined allelic groups of HLA gene loci are sampled, and all possible pairs of haplotypes making up the genotype are determined. Average frequency of occurrence for each haplotype is calculated. Spreadsheet of haplotypes with frequencies of occurrence higher than specified is generated. Virtual lists of haplotype pairs are generated for comparison with patient's genotype alleles. Derived results of matching the patient's genotype and genotypes from the virtual lists are used to predict a probability of finding the donors and an average number of the found donors.

EFFECT: method makes it possible to predict finding a completely or partially matched donor for patients with a known set of alleles of HLA gene loci by forming model virtual registers of arbitrary sizes.

7 cl, 6 dwg, 9 tbl, 3 ex

RU 2840759 C1

RU 2840759 C1

Изобретение относится к медицине, клинической и лабораторной практике в области гематологии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Трансплантация костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) применяется для лечения новообразований лимфоидной и кроветворной тканей, а также для лечения злокачественных новообразований некоторых органов и систем. Выполнение трансплантации аллогенных ГСК (алло-ТГСК) для пациентов часто является единственным способом добиться полной ремиссии заболевания. Источником трансплантата при этом может служить костный мозг или ГСК родственных совместимых доноров, гапло-идентичных доноров или неродственных полностью, или частично совместимых доноров.

В случае выполнения алло-ТГСК под совместимостью подразумевается степень соответствия генов *HLA* (human leucocyte antigen) донора и реципиента. Вариабельность генов *HLA* рассматривают как эволюционный механизм сохранения гомеостаза организма. На основании структуры и функции белковых продуктов генов *HLA* разделяют на три класса. Гены I класса *HLA-A*, *-B* и *-C* и гены II класса *HLA-DRB1*, *-DQB1* и *-DPB1* кодируют гликопротеиды, презентуемые на поверхности клеток. Гены III класса кодируют белки, не имеющие отношения к гистосовместимости и презентации антигенов. Все эти гены расположены на 6-ой хромосоме. Каждый локус гена HLA является вариабельным, при этом на разных хромосомах одного индивида совокупность вариантов генов *HLA* может отличаться. Гаплотипом называют сочетание генов HLA на одной хромосоме (материнской или отцовской). Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) используется следующее обозначение для генов *HLA* (иллюстрация номенклатуры генов HLA согласно ВОЗ представлена на фиг. 1).

Рассматривая пять локусов генов *HLA* - *HLA-A*, *-B*, *-C*, *DRB1*, *-DQB1* - при поиске неродственных доноров, полное совпадение донора и реципиента будет достигаться при совпадении каждого вариабельного гена HLA между донором и реципиентом, то есть все 10 генов *HLA* у них будут совпадать. Частичным совпадением называется несовпадение 1-3 вариабельных генов.

Из-за высокой вариабельности подобрать полностью совместимого неродственного донора часто не представляется возможным. Для этого создаются регистры доноров КМ (костного мозга) и ГСК (гемопоэтических стволовых клеток), включающие большое число индивидов.

Наиболее известными регистрами доноров КМ и ГСК являются:

- Национальный регистр США Be The Match Registry является частью Национальной программы донорства костного мозга (National Marrow Donor Program, NMDP). Регистр объединяет более 19 млн потенциальных доноров КМ и ГСК.

- Центральный регистр доноров костного мозга Германии (ZKRD - Zentrales Knochenmarkspender-Register für die Bundesrepublik Deutschland gemeinnützige GmbH). ZKRD объединяет 26 локальных регистров Германии, в которых суммарно свыше 9 млн потенциальных доноров. Ежедневно добавляется в среднем 1000 новых профилей доноров. Доля успешных поисков совместимых доноров составляет свыше 80%.

- Польский Центральный регистр неродственных потенциальных доноров костного мозга и пуповинной крови (Centralny Rejestr Niespokrewnionych Potencjalnych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej, CRNPDSiKP) находится под управлением уполномоченного органа в области донорства и трансплантации ГСК Poltransplant.

- Израильский регистр доноров костного мозга (EM BMDR) является негосударственной некоммерческой организацией, финансируемой благотворительными взносами. По состоянию на ноябрь 2021 года, регистр содержит 1095269 потенциальных

доноров.

В Российской Федерации в настоящее время отсутствует единый регистр, аккумулирующий информацию обо всех HLA-типированных донорах, позволяющий осуществлять оперативный поиск совместимой пары донор - реципиент. Существуют локальные регистры (Таблица 1), в которых зарегистрировано более 160 тыс. потенциальных доноров. 15 локальных регистров созданы на базе государственных учреждений и 6 регистров являются негосударственными.

Таблица 1 - локальные регистры потенциальных доноров КМ и ГСК, подключенные к базе BMDS

		Число потенциальных доноров
Объединенная база данных BMDS		116624
1	ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России	53058
2	НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой	21251
3	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России	13363
4	ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России	7835
5	ГБУЗ ЧО «Челябинская областная станция переливания крови»	4674
6	НП «Регистр доноров кроветворных клеток и публичных банков пуповинной крови» Учредители компании - ГБУЗ Самарской области «Клинический центр клеточных технологий» и Самарская областная общественная организация помощи детям «Виктория»	2993
7	ГБУЗ СО «Самарская областная клиническая станция переливания крови»	1802
8	ГБУЗ НО «Новосибирский клинический центр крови»	1743
9	ГБУ Ростовской области «Станция переливания крови»	943
10	Регистр федерального государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»	484
11	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1»	269
12	ГБУЗ Иркутской области «Областной онкологический диспансер»	389
13	Югорский НИИ клеточных технологий при БУ Ханты-Мансийского автономного округа - Югры «Окружная клиническая больница»	177
14	ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница № 1»	269
15	ГБУЗ НО «Нижегородский областной центр крови им. Н.Я. Климовой»	49

Все регистры доноров КМ и ГСК, созданные на базе государственных медицинских организаций Российской Федерации, а также Казахстанский национальный регистр объединены в общую базу данных Bone Marrow Donor Search (BMDS), содержащую более 110 тыс. потенциальных доноров.

Крупнейший негосударственный регистр Национальный регистр доноров костного мозга имени Васи Перевощикова (Национальный РДКМ) объединяет доноров Благотворительного фонда «Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток», а также доноров АНО «Приволжский РДКМ», Казань, АНО «Южный РДКМ, Ростов-на-Дону, АНО «Сибирский РДКМ», Новосибирск и АНО «Башкирский РДКМ», Уфа. Таким образом национальный РДКМ включает 54726 потенциальных донора.

Необходимо отметить, что BMDS и Национальный РДКМ не имеют единой системы поиска потенциального донора.

Государственные регистры представляют собой базы данных, содержащие информацию о потенциальных донорах: ФИО, дата рождения, контактные данные, пол, вес, анамнез, данные HLA-типирования, группа крови по системе AB0, резус-принадлежность. Потенциальным донором КМ и ГСК государственного регистра становится гражданин Российской Федерации в возрасте от 18 до 40 лет, удостоверивший личность, подписавший добровольное информированное согласие, заполнивший анкету

донора и прошедший медицинское обследование.

Регистр осуществляет мероприятия по информированию и привлечению доноров, организует медицинское обследование и первичное HLA-типирование доноров, обработку персональных данных, связь с донором при необходимости его повторного медицинского обследования в интересах пациента.

Поиск потенциального донора, его медицинское обследование, включая уточняющее HLA-типирование, забор КМ и ГСК выполняют уже центры трансплантации.

На текущий момент является актуальной проблемой возможность прогнозирования нахождения и подбора в различных видах регистров полностью или частично совместимых доноров, а также увеличение размера регистров, что в свою очередь приведет к увеличению данных в регистрах о гаплотипах, за счет сведений о сочетаниях генов *HLA*, которые находятся в регистре. Возможность прогнозирования подбора донора в том или ином региональном регистре позволит более эффективно подбирать доноров: снизить затраты на логистику, оптимизировать процесс дотипирования, что включает в себя дотипирование доноров в том регионе, где вероятность найти совместимого донора выше, планировать или откладывать алло-ТГСК и своевременно модифицировать терапию в зависимости от определения вероятности найти доноров.

Перед исследователями стояла задача по достижению технического результата по разработке способа, позволяющего прогнозировать нахождение полностью или частично совместимого донора для пациентов с известным набором аллелей локусов генов HLA, опираясь на известное разнообразие генотипов в донорских регистрах любого размера. При этом вероятность нахождения доноров может быть рассчитана для виртуальных регистров.

Важным условием для решения задачи, поставленной перед исследователями являлось то, чтобы частоты встречаемости отдельных гаплотипов в модельных виртуальных регистрах произвольных размеров разрабатываемого способа соответствовали частотам встречаемости гаплотипов в популяции доноров КМ и ГСК, на основании которой модельный регистр формируется.

На текущий момент из уровня техники известны следующие изобретения.

Изобретение «Метод выбора донора для трансплантации или донорского материала с использованием низкой или промежуточной информации о HLA-типировании» (US20180225412). Данное изобретение относятся к способу выбора донора для трансплантации или выбора группы несовпадающих аллелей донора для трансплантации, где двухполевое специфичное типирование белка HLA недоступно для указанных донора(ов) и/или реципиента(ов), включающее компьютерное программное обеспечение и системы для осуществления указанного способа.

Однако данное изобретение не решает поставленную задачу и является способом дополнения имеющихся данных. Такой метод может быть применен для сопоставления уже имеющихся данных по парам донор-реципиент, а не для прогнозировать наличия доноров в виртуальных регистрах.

Также известно изобретение «Метод и алгоритм подбора аллогенных доноров гемопоэтических клеток на основе генотипов KIR и HLA» (US 20160034666). Данный способ используется для подсчета и ранжирования доноров-кандидатов для выполнения HLA-совместимых неродственных алло-ТГСК для пациентов с острым миелоидным лейкозом или миелодиспластическим синдромом. Кандидаты в доноры оцениваются на основе комбинаций аллелей KIR/HLA и генотипа. Описанный способ позволяет ранжировать и выбирать подходящих доноров, которые прогнозируют улучшение клинических результатов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Недостатком данного изобретения также является то, что он применим только для уже имеющихся баз данных и не отвечает на вопрос о прогнозировании.

Кроме того, из уровня техники известна стратегия формирования регистра потенциальных доноров ГСК (Логинова М.А., Парамонов И.В. Стратегия формирования регистра потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток. *Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО)*. 2020;7(4):35-42. https://doi.org/10.21682/2311-1267-2020-7-4-35-42).

Однако данная стратегия не решает задачу по прогнозированию необходимой численности регистра любого размера, а лишь даёт рекомендации по выбору предпочтительных регионов, из которых следует рекрутировать доноров.

В работе Панчанатам, Сундара Натараджан и Фриман, Майкл и Гроенвельт, Гарри и Хасия, Самир, «Будьте на высоте: оптимизация распределения мощностей для трансплантации аллогенных стволовых клеток» (16 июня 2021 г.) приведен пример расчетов вероятности найти доноров на основе частот встречаемости отдельных гаплотипов. Формулы, приводимые в статье, применимы для трёхлокусных гаплотипов, а расчеты основаны на вероятностном подходе. По сути, при поиске совместимых доноров подбираются все совместимые пары отдельных гаплотипов, и суммируется вероятность их встретить.

Если выборка гаплотипов, на основании которых рассчитывается вероятность, велика, то процесс поиска может занять длительное время. Кроме того, в приведенной статье вероятности найти доноров рассчитываются для той же выборки индивидов, а совокупность генотипов в донорском регистре и среди пациентов может отличаться по различным причинам.

В качестве общего вступления к предмету предлагаемого изобретения, описанному более подробно ниже, аспекты, описанные в данном документе, касаются компьютерной системы и способа ее реализации, включающих одну или несколько программ, реализованных программными средствами, логические модули и системы сбора данных.

Далее приводится описание варианта реализации предлагаемого изобретения, которое содержит ссылки на прилагаемые чертежи, которые являются его частью, и которые изображают, в качестве иллюстраций, возможный вариант практической реализации аспектов, описанных в данном документе. При этом следует понимать, что могут быть использованы другие варианты реализации, и могут быть выполнены структурные и функциональные модификации, не выходящие за пределы объема, описанного в данном документе. Различные аспекты могут предусматривать другие варианты реализации и могут быть осуществлены или выполнены различными другими способами.

В предлагаемом варианте реализации изобретения Фиг. 2 чертежа представлен пример компьютерной системы, которая может быть использована для выполнения прикладной программы в соответствии с вариантом реализации изобретения. Фиг. 2 показывает компьютерную систему, которая включает дисплей 1, экран 2, системный блок 3, клавиатуру 4. В системном блоке 3 установлен дисковод CD-ROM, системное запоминающее устройство и накопитель на жестких дисках, которые могут быть использованы для хранения и извлечения программы, реализованной программными средствами, включающей программу в машинном коде для осуществления изобретения, данные для использования по изобретению и т.п. Хотя CD-ROM изображен в качестве типичного примера машиночитаемого носителя информации, могут быть использованы другие машиночитаемые носители информации, включая дискету, магнитную ленту, флеш-память, системное запоминающее устройство, и накопитель на жестких дисках. Дополнительно, машиночитаемый носитель информации может представлять собой

сигнал передачи данных, сформированный в виде электромагнитного сигнала передачи модулированной информации (например, в сети, включая интернет).

Фиг. 3 изображает блок-схему реализации заявленного способа, используемой прикладной программой в соответствии с вариантом реализации изобретения. Компьютерная система является всего лишь одним из примеров пригодной вычислительной системы и не должна рассматриваться как ограничивающая каким-либо образом объем использования или функциональность, предусматриваемые данным описанием. Компьютерная система не должна рассматриваться как имеющая какую-либо зависимость от, или требования к использованию, какого-либо одного из, или комбинации, компонентов, изображенных на Фиг. 2 и 3.

Компьютерная система дополнительно включает подсистемы, такие как центральный процессор, системное запоминающее устройство, постоянное запоминающее устройство (например, накопитель на жестких дисках), сменное запоминающее устройство (например, дисковод CD-ROM, дискета, запоминающее устройство на картах флеш-памяти с USB-интерфейсом), сетевой интерфейс. Другие компьютерные системы, пригодные для использования по изобретению, могут включать дополнительные, или меньшее количество, подсистем. Например, другая компьютерная система может включать несколько процессоров (т.е. быть многопроцессорной системой) или кэш-память.

В некоторых аспектах, компьютерная система может включать различные машиночитаемые носители. Машиночитаемые носители могут быть любыми доступными носителями, которые могут быть доступными для компьютерной системы, могут быть постоянными, могут включать энергозависимые и энергонезависимые, сменные и несменные носители, реализованные с использованием любого способа или технологии хранения информации, такой как машиночитаемые команды, объектный код, структуры данных, программные модули или другие данные. Примеры машиночитаемых носителей могут включать запоминающее устройство с произвольной выборкой (RAM), постоянное запоминающее устройство (ROM), электронно-стираемое программируемое постоянное запоминающее устройство (EEPROM), флеш-память или другую технологию запоминающего устройства, запоминающее устройство на оптическом компакт-диске без возможности перезаписи (CD-ROM), компакт-диски формата DVD (DVD) или другие устройства хранения информации на оптических дисках, устройства хранения информации на магнитных дисках или другие магнитные устройства хранения информации, или любые другие носители, которые могут быть использованы для хранения желательной информации, и которые могут быть доступными для компьютерной системы.

Хотя это не является обязательным, различные аспекты, описанные в данном документе, могут быть реализованы в виде способа, системы обработки данных, или машиночитаемого носителя, на котором записаны исполняемые компьютером команды. Например, предусматривается машиночитаемый носитель с записанными командами для осуществления процессором стадий способа в соответствии с аспектами раскрытых вариантов реализации. Например, аспекты стадий способа и алгоритмов, раскрытых в данном документе, могут быть исполнены процессором компьютерной системы. Такой процессор может осуществлять выполнение исполняемых компьютером команд, хранящихся на машиночитаемом носителе.

Программное обеспечение может храниться в памяти и/или запоминающем устройстве (например, постоянном запоминающем устройстве или сменном запоминающем устройстве) для обеспечения команд для процессора, позволяющих компьютерной

системе выполнять различные функции. Например, постоянное запоминающее устройство (ROM) может хранить программное обеспечение, используемое компьютерной системой, включая, без ограничений, операционную систему, прикладные программы и объектно-ориентированные базы данных (ООБД). Также некоторые или все исполняемые компьютером команды для компьютерной системы могут быть выполнены в виде аппаратных средств или программно-аппаратных средств. Хотя это не изображено, память может содержать одно или несколько приложений, представляющих данные прикладных программ, хранящиеся в памяти при работающей компьютерной системе и исполняемых в компьютерной системе соответствующих прикладных программах (например, задачах программного обеспечения).

Сетевой интерфейс может позволять компьютерной системе поддерживать связь с другими устройствами по любым сетевым соединениям, включая локальную сеть (LAN), глобальную сеть (WAN), или другие сети. Например, компьютерная система может устанавливать соединения по интернету или другим типам компьютерных сетей. В некоторых вариантах реализации, компьютерная система может поддерживать связь с другими устройствами. Данное описание является функциональным для многих других сред или конфигураций вычислительных систем, как общего назначения, так и специализированных. Примеры хорошо известных вычислительных систем, сред и/или конфигураций, которые могут быть пригодны для использования с раскрытыми вариантами реализации, включают, без ограничений, персональные компьютеры (ПК), серверные компьютеры, мультипроцессорные системы, системы на основе микропроцессоров, сетевые ПК, миникомпьютеры, универсальные ЭВМ, распределенные вычислительные среды, которые включают любые из вышеперечисленных систем или устройств.

В данном описании, различные аспекты данного изобретения могут быть представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона используется только для удобства и краткости и не должно рассматриваться как негибкое ограничение объема данного описания. Соответственно, описание диапазона следует рассматривать как конкретно раскрывающее все возможные поддиапазоны, а также индивидуальные численные значения в этом диапазоне. Например, описание диапазона, такого как от 1 до 6, следует рассматривать как конкретно раскрывающее поддиапазоны, такие как от 1 до 3, от 1 до 4, от 1 до 5, от 2 до 4, от 2 до 6, от 3 до 6 и т.д., а также индивидуальные числа в этом диапазоне, например, 1, 2, 3, 4, 5 и 6. Такой подход применяется независимо от размера диапазона.

Следует понимать, что под виртуальным регистром или виртуальным списком генотипов в тексте в дальнейшем будет называться смоделированный список генотипов, на основании которого даётся оценка вероятности нахождения доноров.

Вариант реализации изобретения способа удаленного прогнозирования возможности нахождения полностью или частично совместимого донора для пациентов с известным набором аллелей локусов генов *HLA*, содержащей способ оценки наличия неродственных доноров в виртуальном регистре произвольных размером, представлен на Фиг.3.

Для реализации предлагаемого изобретения используются результаты *HLA*-типирования о наборе аллельных групп локусов гена *HLA* доноров, полученные с помощью молекулярно-биологических методов. Одним из примеров молекулярно-биологических методов получения данных HLA-генотипирования в низком разрешении является проведение генетического исследования методом SSO на платформе Luminex 200 (USA) с использованием реактивов Immucor (USA).

Под термином «молекулярно-генетическое исследование» (МГИ) объединяется ряд

медицинских тестов для выявления изменений в генах, хромосомах, белках.

Выделяют следующие виды тестов:

• Определяющие конкретное изменение в определенном гене.

• Определяющие любые изменения, но только в одном гене.

• Выявляющие изменения в нескольких (ключевых) генах за один тест - мультигенные (панельные).

• Читающие целые хромосомы - хромосомные.

• Читающие основную последовательность ДНК человека, чтобы найти генетические изменения всего генома. (Секвенирование - *от англ. sequence последовательность).*

• Определяющие, какие гены включены или выключены в разных типах клеток - определение экспрессии генов.

• Изучающие количество или уровень активности белков, воспроизводимых генами - биохимические (https://wiki.nenaprasno.ru/).

Процедура получения таких данных детально описана в диссертации Логиновой М.А. (БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ НЕРОДСТВЕННЫХ ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ) (https://www.dissercat.com/content/biologicheskie-aspekty-formirovaniya-registra-potentsialnykh-nerodstvennykh-donorov-gemopoet) и включает следующие этапы:

• Забор периферической крови с антикоагулянтом K_3-ЭДТА.

• Заморозку и хранение пробирок температуре -20±2°С.

• Размораживание пробирок с кровью при температуре плюс 4±2°С в течение 12-14 часов.

• Выделение геномной ДНК методами колоночной фильтрации и сепарации на магнитных частицах.

• Спектрофотометрическое определение концентрации ДНК.

• Выполнение локус-специфическую амплификации, гибридизации и детекции на анализаторе Luminex.

• Анализ данных осуществляли с помощью программы MATCH IT HLA Software согласно инструкции фирмы-производителя.

При этом заявителем в 2021 году были разработаны временные методические рекомендации, регламентирующие *HLA*-типирование доноров костного мозга/гемопоэтических стволовых клеток и взаимодействие регистров доноров костного мозга (далее - Рекомендации). Данные рекомендации активно используются в деятельности заявителя в соответствии с лицензией №Л041-00110-77/00553287 от 29.01.2018 года на оказание высокотехнологичной медицинской помощи в стационарных условиях включая трансплантацию костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток.

Так согласно п.2.1. рекомендаций *HLA*-типирование/тканевое типирование является определение генов или антигенов наследуемой генетической системы, расположенной на 6 хромосоме, одной из функций которой является распознавание и отторжение чужеродных тканей и органов.

Заявитель осуществляет деятельность в области оказания медицинской помощи при заболеваниях (состояниях), для лечения которых применяется трансплантация (пересадка) костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток (ТКМ и ТГСК). Одним из главных условий успешного проведения трансплантации является своевременный выбор оптимального донора: родственного или неродственного. Подбор осуществляется по набору антигенов *HLA*-комплекса, является наследуемой генетической системой,

одной из главных функций которой является распознавание и отторжение чужеродных тканей и органов. Именно результаты *HLA*-типирования реципиентов и потенциальных доноров во многом определяют возможность выполнения трансплантации, выбор варианта ее проведения, а также особенности течения посттрансплантационного периода.

На первом этапе реализации заявленного способа осуществляется *HLA*-генотипирования реципиентов - генетическое исследование методом SSO на платформе Luminex 200 (USA) с использованием реактивов Immucor (USA) (молекулярно-биологических методов получения данных HLA-генотипирования в низком разрешении).

Далее результаты HLA-генотипирования объединяются в объектно-ориентированную базу данных (второй этап реализации изобретения), с возможностью расширения набора типов данных. Примером расширения типа данных, может служить, по меньшей мере информация о регионе проживания, возрасте, поле, национальности индивида которому выполнено HLA-генотипирование. База данных не содержит персонифицированной информации, каждой записи в такой базе присваивается уникальный идентифицирующий номер.

Также база данных может быть сформирована из результатов HLA-генотипирования, содержащихся в регистрах доноров КМ и ГСК, полученных посредством поддержки связи с другими устройствами по любым сетевым соединениям, включая локальную сеть (LAN), глобальную сеть (WAN).

На третьем этапе обработки результатов HLA-генотипирования из базы данных осуществляется выборка данных об исследованных аллельных группах локусов гена *HLA*, на основании которых производится итоговая оценка. При этом выборка данных может быть произведена из ограниченного числа отдельных записей, так и иметь данные только о части исследованных локусов гена *HLA*. Например, если база данных содержит данные об аллельных группах локусов *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*, *-DQB1*, то итоговая выборка может содержать данные только об аллелях локусов *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* или любом другом наборе локусов.

Результат выборки данных представляется в виде сформированной электронной таблицы, где каждая строка таблицы соответствует одному индивиду, а каждая колонка - номеру аллели конкретного локуса гена *HLA*. Общее число колонок составляет $2 \times N_{locus}$, где N_{locus} - число локусов, данные по которым присутствуют в выборке. Пример таблицы с входными данными, если в выборке представлены данные по трём локусам гена *HLA* - *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*, приведен ниже:

Таблица 2. Пример строк из выборки из базы данных HLA-типирования доноров

HLA-A*	HLA-A*	HLA-B*	HLA-B*	HLA-C*	HLA-C*
02	33	13	14	06	08
01	26	35	49	04	07

Результат обработки выборки данных об исследованных аллельных группах локусов гена *HLA* формируется по форме, указанной в таблицы 2.

На четвертом этапе реализации способа, осуществляется определение, из выборки базы данных HLA-типирования доноров, всех возможных пар гаплотипов, из которых состоит генотип. Всего таких пар для отдельного генотипа может быть до $2^{N_{locus}-1}$, а число различных возможных гаплотипов для отдельного генотипа может достигать $2^{N_{locus}}$. Пример составления пар гаплотипов для конкретного индивида, указанного

в строке 1 Таблицы 2, приведен в Таблице 3.

Таблица 3. Гаплотипы, из которых может состоять определенный генотип

генотип					
HLA-A*	**HLA-A***	**HLA-B***	**HLA-B***	**HLA-C***	**HLA-C***
02	33	13	14	06	08
Гаплотип 1			*Гаплотип 2*		
HLA-A*	**HLA-B***	**HLA-C***	**HLA-A***	**HLA-B***	**HLA-C***
02	13	06	33	14	08
02	13	08	33	14	06
02	14	06	33	13	08
02	14	08	33	13	06

В результате предварительной обработки получают: список всех возможных генотипов по N_{locus} локусов (с указанием числа раз, которое этот генотип встретился в выборке) - gen_1, gen_2,…,, список возможных пар гаплотипов, из которых может состоять каждый генотип из этого списка, список всех возможных гаплотипов в выборке- $hapl_1$,$hapl_2$,… .

Результат определения всех возможных пар гаплотипов, из которых состоит генотип на пятом этапе реализации способа используются для кластеризации с целью получения наиболее вероятных частот встречаемости отдельных гаплотипов. Для этого применяется модельный алгоритм кластеризации. В примере реализации описываемого изобретения используется EM-алгоритм (2).

Для использования этого алгоритма задаются по меньшей мере следующие параметры: n_{runs} - число независимых запусков EM-алгоритма, n_{iter} - максимальное число итераций (повторений) в рамках одного запуска, Δ_{min} - разница по сравнению с предыдущей итерацией при достижении значения которой независимый запуск EM-алгоритма останавливается. В каждом независимом запуске EM-алгоритма для первой итерации устанавливаются случайные частоты встречаемости гаплотипов, из которых состоит уникальный генотип.

По итогам независимых запусков EM-алгоритма рассчитывается среднее значение частоты встречаемости для каждого гаплотипа $hapl_t$

Далее из гаплотипов $hapl_t$ (где t = 1,…,h), а также соответствующих им рассчитанных частот встречаемости в каждом из независимых запусков EM-алгоритма формируется электронная таблица результатов, пример которой приведен в Таблице 4.

Таблица 4. Пример результатов применения EM-алгоритма n_{runs} раз для выборки из базы данных, включающей данные по 5 локусам гена *HLA* (*HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1*) 13327 доноров. Приведены данные для двух независимых запусков EM-алгоритма и 4-х наиболее часто встречающихся гаплотипов

гаплотип					частота встречаемости	
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1	запуск 1	запуск 2
01	08	07	03	02	0,0402	0,0403
03	07	07	15	06	0,0264	0,0263
03	35	04	01	05	0,0254	0,0247
02	07	07	15	06	0,0168	0,0161

После выполнения всех n_{runs} независимых запусков EM-алгоритма осуществляется расчет среднего значения частоты встречаемости для каждого гаплотипа $hapl_t$ по формуле:

$$p_t = \frac{\sum_{i=1}^{n_{runs}} p_{t(i)}^{(G)}}{n_{runs}}$$

Где:

p_t - среднее значение частоты встречаемости гаплотипа t по n_{runs} независимым запускам,

$p_{t(i)}^{(G)}$ - частота встречаемости гаплотипа t в i-ом независимом запуске (5), завершившемся на итерации G.

По итогу работы алгоритма кластеризации формируется промежуточная электронная таблица, содержащая отдельные гаплотипы и средние значение частоты их встречаемости. Пример такой таблица приведен ниже (Таблица 5).

Таблица 5 - Пример результатов кластеризации гаплотипов и соответствующих им средних частот встречаемости. Приведены результаты расчетов для выборки из базы данных, включающей данные по 5 локусам гена *HLA* (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1) для 13327 доноров. Приведены частоты встречаемости 4-х наиболее часто встречающихся гаплотипов

гаплотип					Средняя частота встречаемости
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1	
01	08	07	03	02	0,0402
03	07	07	15	06	0,0264
03	35	04	01	05	0,0250
02	07	07	15	06	0,0163

Результат кластеризации гаплотипов с указанием средней частоты встречаемости на шестом этапе реализации способа дополнительно обрабатывается посредством исключения гаплотипов, частота встречаемости которых составляла меньше заданной чистоты встречаемости. По итогу формируется электронная таблица гаплотипов с частотами встречаемости, выше заданной. Она включает $h_{corrected}$ гаплотипов.

Совокупная частота встречаемости гаплотипов при этом становится менее 1 и корректируется, согласно формуле:

$$p_t^{corrected} = \frac{p_t}{\sum_{i=1}^{h_{corrected}} p_i}$$

где:

p_i – частота встречаемости гаплотипа i,

$p_t^{corrected}$- скорректированная частота встречаемости гаплотипа t,

p_t - рассчитанная частота встречаемости гаплотипа t,

$h_{corrected}$ – число гаплотипов с частотой встречаемости выше заданной.

Далее формируется промежуточная электронная таблица, которая содержит информацию о всех гаплотипах с указанием соответствующей частоты встречаемости гаплотипов, скорректированной в соответствии с заданными показателями ($p_t^{corrected}$).

На седьмом этапе реализации способа генерируется один или несколько виртуальных списков пар гаплотипов для сравнения с аллелями генотипа пациента. Генерация осуществляется по следующим параметрам: число независимых генераций случайных выборок (n_{gen}) гаплотипов и размер этих выборок - N, при этом размер таких выборок может быть произвольным. Для этого сначала для каждой независимой генерации

выполняются две случайные выборки гаплотипов размера N (независимо друг от друга), и из каждой пары формируется виртуальный список генотипов. Всего таких виртуальных списков генотипов - n_{gen}. Генерация случайных выборок осуществляется путем создания двух независимых случайных выборок размера N, из списка гаплотипов, сформированных на шестом этапе реализации способа, с учетом заданной частоты встречаемости гаплотипов.

Например, если гаплотипы двух случайных выборок обозначить как $HAPL_1^{(1)},HAPL_2^{(1)},...,HAPL_N^{(1)}$ и $HAPL_1^{(2)},HAPL_2^{(2)},...,HAPL_N^{(2)}$ (где в скобках указан номер независимой выборки), то при их объединении формируется набор генотипов: $GEN_1,GEN_2,...,GEN_N,\ldots$, при этом GEN_iсостоит из $HAPL_i^{(1)}$ и $HAPL_i^{(2)}$.

Пример формирования виртуального списка генотипов представлен в Таблице №6

Таблица 6. Пример объединения двух выборок случайных гаплотипов по трём локусам гена HLA (HLA-A, -B, -C) в виртуальный список генотипов.

Выборка 1 случайных гаплотипов	Выборка 2 случайных гаплотипов	Список виртуальных генотипов
HLA-A*02-B*27-C*02	HLA-A*32-B*44-C*05	HLA-A*02-A*32-B*27-B*44-C*02-C*05
HLA-A*30-B*38-C*07	HLA-A*68-B*49-C*12	HLA-A*30-A*68-B*38-B*49-C*07-C*12
HLA-A*02-B*15-C*07	HLA-A*33-B*51-C*07	HLA-A*02-A*33-B*15-B*51-C*07-C*07
HLA-A*03-B*27-C*02	HLA-A*32-B*40-C*03	HLA-A*03-A*32-B*27-B*40-C*02-C*03
HLA-A*02-B*50-C*06	HLA-A*02-B*51-C*07	HLA-A*02-A*02-B*50-B*51-C*06-C*07
HLA-A*02-B*35-C*04	HLA-A*03-B*51-C*16	HLA-A*02-A*03-B*35-B*51-C*04-C*16

На восьмом этапе реализации способа, сформированные списки выборки случайных гаплотипов соотносятся с данными о генотипе пациента, который обозначается как GEN. При реализации изобретения на данном этапе учитываются максимально допустимое число несовпадений аллельных групп между GEN и генотипами из виртуальных списков, которое обозначается как «maximum_mismatch». На данном этапе рассчитывается число генотипов из виртуальных списков, при условии, что они имеют определенное число несовпадений с тестируемым генотипом.

Далее каждый GEN_i из N генотипов сравнивается с GEN независимо для каждого из n_{gen} списков генотипов.

Так для каждого набора генотипов GEN_i которыйвключает в себя данные об локусах гена, с учетом парного набора хромосом, в котором на разных хромосомах аллели локусов генов могут отличаться, GEN_i записывается в виде:

$X_i^1x_i^1X_i^2x_i^2...X^{n_{locus}}_i x^{n_{locus}}_i$, где X_i^j и x_i^j - аллели локуса j из генотипа i, расположенных на разных хромосомах.

Далее осуществляется расчет числа несовпадений между GEN и GEN_i по формуле:

$$total_mismatch_i = \sum_{j=1}^{n_{locus}} mismatch(X^jx^j;X_i^jx_i^j)$$, где X^j и x^j - аллели локуса j генотипа GEN.

$mismatch\left(X^jx^j;X_i^jx_i^j\right)$ - функция, возвращающая 0, 1 или 2 - минимум из числа несовпадений между $X^jX_i^j$ и $x^jx_i^j$ или $X^jx_i^j$ и $x^jX_i^j$.

Так, например, если в генотипе GEN_j аллели локусов гена HLA-A*02 и HLA-A*03, а в генотипе GEN - HLA-A*01 и HLA-A*02, то результатом выполнения функции mismatch будет 1.

Далее для каждого из виртуальных списков генотипов подсчитывается число генотипов с различными значениями максимально допустимого числа несовпадений аллельных групп между GEN и генотипами из виртуальных списков (total_mismatch). Формируется промежуточная электронная таблица, в которую включается только число генотипов из виртуальных списков с показателями соотнесения с тестируемым генотипом меньше или равными заданному максимально допустимому числу несовпадений аллельных групп.

Пример формирования результатов соотнесения генотипа пациента с генотипами из виртуальных списков приведен в Таблице 7.

Таблица 7 - Пример таблицы результатов соотнесения генотипа пациента с генотипами из виртуальных списков. Данные приведены для соотнесения с тремя виртуальными списками и для максимального числа несовпадений генотипов равного 2.

число несовпадений (total_mismatch)	Число генотипов на итерации 1	Число генотипов на итерации 2	Число генотипов на итерации 3
0	3	0	2
1	15	16	12
2	22	26	27

Далее на 10 этапе реализации способа на основании полученных результатов соотнесения генотипа пациента с генотипами из виртуальных списков осуществляется прогнозирование вероятности найти доноров и среднее число найденных доноров.

Для прогнозирования вероятности найти доноров и среднее число найденных доноров число гаплотипов с числом несовпадений j на итерации i обозначается $\mathrm{total_mismatch}_j^i$.

После этого рассчитывается среднее значение числа гаплотипов с числом несовпадений j на итерации i по n_{gen} итераций, а также отношение по формуле:

$$total_mismatch^{(>0)}_{j} = \frac{\sum^{n_{gen}}_{i=1,\ total_mismatch^i_j>0} i}{n_{gen}}$$

Формируется итоговая электронная таблица, содержащая результаты определения наличия доноров в виртуальных списках, которая содержит следующие сведения:

- Сведения о числе доноров, которых можно найти для пациента в регистре соответствующего размера, рассчитанное для каждого числа несовпадений аллелей, с учетом показателей меньше или равных максимально допустимому числу несовпадений аллельных групп среднего числа гаплотипов по всем виртуальным спискам и меньше или равных максимально допустимого числа несовпадений аллельных групп между GEN и генотипами из виртуальных списков.

- Сведения о вероятности найти донора в регистре соответствующего размера в числовом выражении и определенное для каждого числа несовпадений аллелей с учетом показателей меньше или равных максимально допустимому числу несовпадений аллельных групп среднего числа гаплотипов по всем виртуальным спискам и меньше или равных максимально допустимому числу несовпадений аллельных групп между GEN и генотипами из виртуальных списков, в которых нашелся хотя бы один генотип

с соответствующим total_mismatch, от всех виртуальных списков. Пример результата прогнозирования представлен в Таблице 8.

Таблица 8. Пример результатов определения наличия доноров в виртуальных списках

параметр	значение
$total_mismatch_0^{(>0)}$	0,6
$\overline{\text{total_mismatch}_0}$	1,1
$total_mismatch_1^{(>0)}$	0,9
$\overline{\text{total_mismatch}_1}$	1,7

Таким образом, вероятность найти донора в виртуальном списке, включающем N генотипов, для пациента с генотипом GEN составляет 60% и 90% при полном совпадении генотипов и при одном несовпадении аллелей соответственно. Среднее число найденных доноров составляет 1,1 и 1,7 соответственно.

Пример реализации заявленного изобретения способ оценки наличия неродственных доноров в виртуальном регистре произвольных размеров с использованием компьютерной системы прогнозирования возможности нахождения полностью или частично совместимого донора для пациентов с известным набором аллелей локусов генов HLA полностью решает поставленную перед исследователями задачу по достижению технического результата по прогнозированию нахождения полностью или частично совместимого донора для пациентов с известным набором аллелей локусов генов HLA, опираясь на известное разнообразие генотипов в донорских регистрах любого размера и оценку наличия неродственных доноров в виртуальных регистрах произвольных размеров, в которых частоты встречаемости отдельных гаплотипов соответствовали частотам встречаемости гаплотипов в популяции доноров КМ и ГСК, на основании которой модельный регистр формируется.

Для подтверждения заявленного технического результата исследователями были проведены эксперименты для оценки того, как результаты предлагаемого способа оценки наличия доноров в виртуальных списках соотносятся с результатами подбора в реальной выборке доноров.

Примеры проведенных исследований с подтверждением заявленного технического результата приводятся ниже.

Из базы данных была получена выборка из 13327 строк с генотипами доноров (далее «Выборка 1»), включавшая результаты HLA-типирования по 5 локусам гена HLA (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1).

На этапе предварительно обработки были определены 11498 различных генотипов и 64251 различных гаплотипов. Для определения частот встречаемости гаплотипов был применен EM-алгоритм, который запускался независимо (n_{runs}) 200 раз, с максимальным числом итераций равным 1000 (n_{iter}) и Δ_{min} равной 10^{-7}.

В результате реализаций EM-алгоритма после усреднения частот по всем реализациям и отсечения всех гаплотипов, встречающихся реже, чем 1 на 10^5, в блоке пост-обработки (5) был получен список частот встречаемости гаплотипов, включивший 3739 гаплотипов с частотами встречаемости от 0,0402 до 0,00001 (6). Тридцать наиболее часто встречающихся гаплотипов приведены в Таблице 9.

Таблица 9. 30 наиболее часто встречающихся гаплотипов в исследуемой выборке

HLA-A*	HLA-B*	HLA-C*	HLA-DRB1*	HLA-DQB1*	Частота встречаемости
01	08	07	03	02	0,0402
03	07	07	15	06	0,0264
03	35	04	01	05	0,0254
02	07	07	15	06	0,0168
02	13	06	07	02	0,0166
25	18	12	15	06	0,0129
02	41	17	13	03	0,0111
30	13	06	07	02	0,0110
02	18	07	11	03	0,0104
23	44	04	07	02	0,0095
24	07	07	15	06	0,0084
33	14	08	01	05	0,0084
02	15	03	04	03	0,0080
01	57	06	07	03	0,0080
24	13	06	07	02	0,0076
11	35	04	01	05	0,0067
25	18	12	04	03	0,0067
02	44	07	16	05	0,0063
02	15	03	13	06	0,0057
02	27	02	16	05	0,0057
02	27	02	01	05	0,0057
02	57	06	07	03	0,0056
02	44	05	04	03	0,0053
02	40	03	04	03	0,0045
26	38	12	13	06	0,0045
02	38	12	13	06	0,0043
24	35	04	11	03	0,0042
24	39	07	04	03	0,0042
03	07	07	01	05	0,0042
26	38	12	04	03	0,0042

Далее в блоке (7) произвели 100 (n_{gen}) независимых генераций виртуальных списков генотипов, включавших по 12500 генотипов (N).

В блок (8) независимо передавались данные о гаплотипах 530 пациентов («Выборка 2»). Максимальное число несовпадений гаплотипов составляло 2.

В блоке (9) были получены результаты соотнесения для каждого пациента из «Выборки 2».

Эти результаты были соотнесены с результатами поиска доноров среди «Выборки 1».

Анализировали два типа статистических оценок:

1) Корреляцию между средним числом доноров в результатах применения изобретения (10) и результатами подбора доноров в «Выборке 1». Точка на графике - это результаты по одному индивиду из «Выборки 2». В данном случае, если для индивида из «Выборки 2» не было найдено совместимых индивидов в «Выборке 1», на графике он не отражен. Так как рассматривается 3 варианта совместимости (10/10, 9/10 и 8/10 аллельных групп), будут представлены 3 графика зависимости.

2) ROC-анализ с целью определения качества того, как получаемые в изобретении результаты (10) соотносятся с результатами подбора доноров «Выборке 1». В данном случае есть две градации признака: нашелся хотя бы один донор в «Выборке 1» или нет. Для выполнения ROC-анализа рассчитываются два параметра - чувствительность и специфичность. Чувствительность в данном случае - это доля индивидов из «Выборки 2», которым нашелся донор в виртуальных списках, от всех индивидов из «Выборки

2», которым нашелся донор в «Выборке 1». Специфичность - доля индивидов в «Выборке 2», которым не было найдено донора в виртуальных списках, от всех индивидов из «Выборки 2», которым не было найдено доноров в «Выборке 1». Для всех возможных порогов рассчитывается чувствительность и специфичность, и в координатах (чувствительность;1-специфичность) строится график зависимости этих параметров, и рассчитывается площадь под получившийся кривой. Чем она ближе к 1, тем лучше работает предлагаемая модель.

Результаты этих анализов приведены на фиг. 3. R^2 зависимостей числа доноров составлял 0,86, 0,94 и 0,94 для 10/10, 9/10 и 8/10 совпадений соответственно ($p < 0,0001$).

Тангенсы углов наклона регрессионных прямых, отображенных на фиг. 3 А, В, Д, составляли 1,2, 1,2 и 1,1.

Площадь под ROC-кривой (AUC - Area Under Curve) - 0,92, 0,93 и 0,96 для 10/10, 9/10 и 8/10 совпадений соответственно ($p < 0,0001$, фиг. 3 Б, Г, Е).

Все указанные данные указывают на правомерность предлагаемого алгоритма предсказания наличия доноров и их числа для отдельных пациентов.

Фигура 4 иллюстрирует результаты соотнесения подборов совместимых пар для «Выборки 2» в виртуальных списках и «Выборке 1». А, В, Д - соотнесения числа подобранных доноров для 10/10, 9/10 и 8/10 совпадений соответственно. Б, Г, Е - ROC-анализ для 10/10, 9/10 и 8/10 совпадений соответственно.

Пример реализации изобретения 1. Из базы данных была получена выборка из 13327 строк с генотипами доноров, включавшая результаты HLA-типирования по 5 локусам гена *HLA* (*HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1*).

На этапе предварительной обработки были определены 11498 различных генотипов и 64251 различных гаплотипов. Для определения частот встречаемости гаплотипов был применен EM-алгоритм, который запускался независимо (n_{runs}) 200 раз, с максимальным числом итераций равным 1000 (n_{iter}) и Δ_{min} равной 10^{-7}.

В результате выполнения EM-алгоритма после усреднения частот по всем независимым запускам и отсечения всех гаплотипов, встречающихся реже, чем 1 на 10^5, в блоке пост-обработки (5) был получен список частот встречаемости гаплотипов, включивший 3739 гаплотипов с частотами встречаемости от 0,0402 до 0,00001 (6).

Далее в блоке (7) произвели 100 (n_{gen}) независимых генераций виртуальных списков генотипов, включавших различное число генотипов (N) - от 10 до 1000000.

В блок (8) независимо передавались данные о гаплотипах 3 пациентов. Оценка выполнялась для полного совпадения аллельных групп доноров и пациентов.

В блоке (9) были получены результаты соотнесения для каждого из трёх пациентов из «Выборки 2».

Генотипы у пациентов (п1, п2 и п3) следующие:

- п1 - *HLA-A*01-A*02-B*08-B*38-C*07-C*12-DRB1*03-DRB1*04-DQB1*02-DQB1*03*
- п2 - *HLA-A*02-A*24-B*13-B*41-C*06-C*17-DRB1*07-DRB1*13-DQB1*02-DQB1*03*
- п3 - *HLA-A*02-A*31-B*35-B*38-C*04-C*12-DRB1*01-DRB1*10-DQB1*05-DQB1*05*

Вероятности найти хотя бы одного донора для них представлены на Фиг.5

При включении в МР 10^5 случайных гаплотипов, вероятности найти донора составляли 67%, 100% и 13% для п1, п2 и п3 соответственно. При 5×10^5 - 99%, 100% и 41% для п1, п2 и п3 соответственно, а при 10^6 - 100%, 100% и 66%. В зависимости от генотипа вероятность найти полностью совместимого донора существенно отличается.

Для п1 она достигла 100% при $7,5\times10^5$ случайных сочетаний гаплотипов, для п2 - при 4×10^4, т.е. на порядок меньшем числе сочетаний гаплотипов в виртуальных списках.

Возможно, что, используя результаты такой предварительной теоретической оценки, инициацию поиска неродственных доноров для пациентов с низкой вероятностью найти донора можно не выполнять при наличии гапло-идентичных доноров.

Пример реализации изобретения 2.

В данном примере из базы данных доноров будет осуществлено несколько выборок и будет показано, как для одного пациента число совместимых доноров, определяемых в виртуальных списках, может отличаться в зависимости от выборки. Решение такой задачи может помочь прогнозировать субъект РФ, в котором донор найдётся с большей вероятностью.

Из базы данных были получены три выборки: из 5388 строк с генотипами доноров, зарегистрированных в Москве («Выборка 1»), 1208 строк с генотипами доноров, зарегистрированных в Бурятии, Башкирии, Белгороде, Муроме или Липецке («Выборка 2»), и 846 строк с генотипами доноров, зарегистрированных в Якутии, Северной Осетии, Чите, Ярославле и Московской области («Выборка 3»). Каждая из выборок включала результаты HLA-типирования по 5 локусам гена *HLA* (*HLA-A*, *-B, -C, -DRB1, -DQB1*).

На этапе (3) в «Выборке 1» было выявлено 4960 различных генотипов и 40838 гаплотипов, в «Выборке 2» - 1183 и 16003 соответственно, а в «Выборке 3» - 831 генотип и 12027 гаплотипов соответственно.

Для каждой из выборок для определения частот встречаемости гаплотипов был применен EM-алгоритм (4), который запускался независимо (n_{runs}) 100 раз, с максимальным числом итераций равным 100 (n_{iter}) и Δ_{min} равной 10^{-7}.

После чего на этапе (6) при исключении всех гаплотипов, частота встречаемости которых была ниже 10^{-5}, в «Выборке 1» было определено 2837 гаплотипов, наиболее часто из которых встречался HLA-A*01-B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02 - в 3,97%. В «Выборке 2» - 1828 гаплотипов, наиболее часто из которых встречался HLA-A*01-B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02 - в 3,25%. В «Выборке 3» - 1997 гаплотипов, наиболее часто из которых встречался HLA-A*01-B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02 - в 3,07%.

Далее в блоке (7) для частот встречаемости гаплотипов каждой из выборок произвели 100 (n_{gen}) независимых генераций виртуальных списков генотипов, включавших 100 000 генотипов (N).

В блок (8) был передан генотип пациента - *HLA-A*02-A*03-B*07-B*44-C*05-C*07-DRB1*15-DRB1*16-DQB1*05-DQB1*06.* Оценка была выполнена для совпадений по 10, 9 и 8 аллельным группам генотипов.

В результате выполнения блока соотнесения гаплотипов (9) были получены следующие результаты (10):

Для пациента с указанным генотипом вероятность найти полностью совместимого донора в «Выборке 1» составила 100%, и 90% и 27% в «Выборке 2» и «Выборке 3» соответственно. Вероятность найти частично совместимых доноров во всех случаях равнялась 100%. Такой анализ показывает, что более предпочтительными для поиска полностью совместимых доноров для этого пациента являются доноры из Москвы, в других субъектах вероятность найти доноров для пациента ниже. Такие результаты можно применить для коррекции численности регистров в отдельных субъектах страны.

Пример реализации изобретения 3. Указанное изобретение можно использовать для планирования наполнения регистра доноров костного мозга.

Если стоит задача оценить то, при какой численности регистра удастся найти полностью совместимого донора для 50% пациентов, то можно создать виртуальные списки генотипов с разной численностью и показать, при определенном числе генотипов в таких списках целевой показатель выполняется.

Из базы данных была получена выборка из 13327 строк с генотипами доноров, включавшая результаты HLA-типирования по 5 локусам гена *HLA* (*HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1*).

На этапе предварительной обработки были определены 11498 различных генотипов и 64251 различных гаплотипов. Для определения частот встречаемости гаплотипов был применен EM-алгоритм, который запускался независимо (n_{runs}) 200 раз, с максимальным числом итераций равным 1000 (n_{iter}) и Δ_{min} равной 10^{-7}.

В результате реализаций EM-алгоритма после усреднения частот по всем реализациям и отсечения всех гаплотипов, встречающихся реже, чем 1 на 10^5, в блоке пост-обработки (5) был получен список частот встречаемости гаплотипов, включивший 3739 гаплотипов с частотами встречаемости от 0,0402 до 0,00001 (6).

Далее в блоке (7) произвели 100 (n_{gen}) независимых генераций виртуальных списков генотипов, включавших различное число генотипов (N) - от 10 до 1000000.

В блок (8) дополнительно были независимо друг от друга переданы генотипы 530 пациентов, а оценивалось только число полностью совместимых доноров.

Совокупность результатов (10) представлена на Фиг. 6. При включении 350 000 гаплотипов в виртуальные списки вероятность для более чем 53% пациентов удается найти одного и более полностью совместимого донора. На фигуре 6 проиллюстрирована вероятность найти доноров для совокупности пациентов.

Такую оценку можно проводить динамически, при добавлении информации о генотипах доноров в общую базу и при расширении выборки пациентов. Благодаря этому можно отслеживать и предсказывать скорость достижения целевых показателей поиска доноров.

Далее приводятся клинические примеры заявителя.

Пациент А.Л.А., 28.11.1978

Диагноз острого миелоидного лейкоза установлен в феврале 2020 (возраст на момент установки диагноза - 42 года) на основании:

- гемограммы: гемоглобин 69 г/л, лейкоциты 1,4%;
- миелограмма: бласты 70%;
- иммунофенотипирование бластных клеток: $MPO^+CD33^+CD34^+CD117^+HLA\text{-}DR^+CD38^+CD64^+$ $CD45^+$, что соответствует острому миелоидному лейкозу;
- FISH: Хромосомные аберрации не обнаружены;
- Люмбальная пункция: данных за нейролейкоз нет.

С 10.03.20 по 16.03.2020 проведен курс 7+3. После курса в миелограмме 38% бластных клеток, констатировано первично-резистентное течение. В ГБУЗ Оренбургской ОКБ с апреля по июнь проведено 2 курса НАМ в адаптированных дозах (1 курс редукция доз на 50%, 2 курс - редукция на 25%).

В июне-июле 2020 перенесла короновирусную инфекцию.

В августе 2020 года по данным миелограммы достигнута ремиссия заболевания (бласты 3,2%). 29.10.2020 выполнено исследование минимальной остаточной болезни (МОБ), по результатам которого опухолевая популяция была выявлена в количестве 5%, при этом в миелограмме 4% бластных клеток.

В ноябре 2020 проведен курс по программе FLAG. С 21.12.20 по 25.12.20 проведен курс 5+5. В феврале 2021 проведен 2-й курс по программе FLAG. После чего 18.03.2021 в ФГБУ «НМИЦ гематологии» выполнена пункция костного мозга. В миелограмме выявлены бластные клетки бластные клетки в количестве 3.2 %, МОБ не выявляется. Таким образом, сохранялась ремиссия заболевания.

Учитывая молодой возраст, неблагоприятный прогноз основного заболевания в схему терапии решено включить трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Но также был выполнен поиск неродственных доноров в Российском регистре доноров костного мозга (BMDS).

В результате выполнения HLA-генотипирования был установлен генотип по 5 локусам генов *HLA*:

*HLA-A*02-A*02-B*18-B*48-C*07-C*08-DRB1*07-DRB1*14-DQB1*02-DQB1*05*.

В регистре BMDS не было найдено полностью совместимых доноров, и был найден один частично совместимый донор, HLA-типирование которому было выполнено по 4 локусам гена HLA (генотип донора *HLA-A*02-A*02-B*18-B*48-C*07-C*08-DRB1*07-DRB1*14*, частичная совместимость ассоциирована с расхождением аллелей внутри аллельных групп). При применении предлагаемой модели подбора доноров, График вероятности найти полностью или частично-совместимого донора в виртуальных регистрах разного размера представлен на фигуре 7.

Даже в виртуальном регистре, включающем 10^6 доноров, вероятность найти полностью совместимого донора составила 0%. Вероятность найти хотя бы одного частично совместимого донора достигала 15% при 10^6 доноров в виртуальном регистре.

Предсказанные с помощью модели результаты согласуются с полученными при поиске в BMDS. Трансплантацию решено было проводить от родственного гаплоидентичного донора (брат).

Перед планируемой алло-ТГСК проведено обследование: 21.04.21 выполнена повторная пункция костного мозга. МОБ составила 0.57%. Трансплантационный риск по шкале EBMT - 4, по шкале HCT-CI - 1 промежуточный риск (ИМТ 38.6).

С 23.04.21 проведено предтрансплантационное кондиционирование в режиме пониженной интенсивности (флударабин 150 мг/м2, бусульфан 8 мг/кг). 30.04.21 выполнена алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора (муж, 1976 г.р.), (в трансплантате 5×10^6/кг $CD34^+$ клеток). Иммуносупрессивная терапия проводилась в режиме: циклофосфамид 50 мг/кг +3, +4 дни, циклоспорин 3 мг/кг/сут с +5 дня, микофенолата мофетил 30 мг/кг с + 5 дня. С 30.04.21 отмечен вираж лихорадки до фебрильных значений, к терапии был добавлен цефоперазон/сульбактам, с эффектом в виде нормализации температуры, с 17.05.21 цефоперазон/сульбактам отменен, переведена на профилактику левофлоксацином.

На +21 день отмечено восстановление показателей. В контрольный срок +1 месяц алло-ТГСК выполнена пункция костного мозга - сохранялась МОБ-негативная ремиссия заболевания на фоне 100% донорского кроветворения. С 24.06.21 состояние с отрицательной динамикой в виде подъема температуры тела в вечерние часы, последовательно проводилась терапия цефоперазоном/сульбактамом и амикацином, затем меропенемом. Однако лихорадка сохранялась, в связи с чем с 31.05.21 эмпирически начата противогрибковая терапия каспофунгином, с эффектом, 07.06.21 отменен меропенем.

С 02.06.21 отмечено развитие острой РТПХ кожи, проводилась местная обработка кожи бетаметазоном, такролимусом, в/в введение циклоспорина, с полным ответом. С

10.06.21 по 24.06.21 в связи с развитием ЦМВ-цистита, проводилась противовирусная терапия ганцикловиром, с эффектом. Учитывая ранние сроки после алло-ТГСК, глубокий Т-клеточный иммунодефицит, развитие ЦМВ-инфекции и риски несостоятельности трансплантата, 12.06.21 выполнено введение ЦМВ-специфичными лимфоцитов донора, перенесла удовлетворительно. Также из сопутствующей патологии - остеохондроз, задняя медианная грыжа м/п диска L5-S1 8 мм с деформацией дурального мешка, задняя медианная с правосторонней латерализацией грыжа м/п диска L5-S1 6 мм с деформацией дурального мешка, грыжа Шморля.

В контрольный срок +2 месяца после алло-ТГСК выполнена пункция костного мозга - сохраняется МОБ-негативная ремиссия на фоне 100% донорского кроветворения. Была выписана из стационара в удовлетворительном состоянии. Через неделю после выписки отмечался вираж лихорадки до 38,0, появление кашля, заложенности носа, проводилась антибиотическая терапия амоксициллин+клавулоновая кислота с эффектом.

На сроке + 3 месяца после алло-ТГСК при контрольном исследовании в миелограмме: бласты 0,8%, по данным молекулярного химеризма примесь ДНК реципиента не обнаружена, МОБ не выявляется. Начато постепенное снижение микофенолата мофетила, учитывая высокий риск развития рецидива заболевания планировалось проведение курсов азацитидина в сочетании с трансфузией лимфоцитов донора.

18.08.2021 выполнено введение лимфоцитов донора, (1×10^4), перенесла удовлетворительно. С 18.08 по 21.08.21 проведен 1-й курс азацитидина 32 мг/м^2, перенесла относительно удовлетворительно, отмечалась тошнота, рвота, проводилась терапия метоклопрамидом. Микофенолата мофетил отменен 07.09.21. С 27.09 по 30.09.21 проведен 2-й курс азацитидина 32 мг/м^2, перенесла относительно удовлетворительно, отмечалась тошнота, рвота, проводилась терапия метоклопрамидом.

С конца октября отметила потемнение кожных покровов, отечность в ротовой полости, снижение циклоспорина приостановлено, от проведения 3-го курса азацитидина и ТЛД решено воздержаться, оптимизирована доза циклоспорина до 100 мг/сутки, на этом фоне отмечается положительная динамика в состоянии кожи, слизистых. Выполнена люмбальная пункция №1, от 09.12.21, перенесла тяжело с постлюмбальным пункционным синдромом, проводилась терапия парацетамолом, диакарбом, с эффектом. Сохранялись признаки хронической РТПХ с поражением слизистой, кожи, продолжалась иммуносупрессивная терапия циклоспорином, местная терапия ГКС, наблюдается у офтальмолога по месту жительства.

В контрольный срок на +1 после год алло-ТГСК (13.04.22), + 1,5 года (23.11.22) по данным обследования сохранялась ремиссия заболевания, 100% донорское кроветворение. Иммуносупрессивная терапия циклоспорином отменена 30.03.23. Признаки хронической РТПХ слизистых без прогрессии, на фоне продолжающейся местной терапии. С середины июля 2023 года эпизод ОРВИ, симптоматическая терапия с эффектом.

Пациент В.А.А., 29.10.1987

Диагноз острый миелобластный лейкоз (М4 по FAB) с коэкспрессией CD7 установлен в июне 2018 г. в ДЗМ ГКБ им. С.П. Боткина на основании:

- лейкоцитоза 40×10^9/л, бластемии 34%.
- Данных за цитогенетические аномалии получено не было.
- МРО положительна в 23% бластов.
- Липиды положительные в 42% бластов.
- PAS-реакция положительна в 12% бластов.

С июня 2018 г. проведено 2 курса 7+3 с даунорубицином, 3 курса НА, 1 курс поддерживающей терапии "5+1". Клинико-гематологическая ремиссия достигнута после первого курса индукции 31.07.2018 г., выполнялись ЛП с интратекальным введением цитостатиков.

Учитывая неблагоприятный прогноз основного заболевания, молодой возраст, отсутствие HLA-идентичных сиблингов в программу терапии было решено включить трансплантацию аллогенного костного мозга.

Было выполнено HLA-генотипирование, определен генотип по 5 локусам гена *HLA*: *HLA-A*02-A*24-B*07-B*44-C*05-C*07-DRB1*11-DRB1*11-DQB1*03-DQB1*03.* При поиске в BMDS для пациентки были найдены 1 полностью и 15 частично-совместимых доноров. Трансплантацию выполнили от неродственного частично-совместимого донора из российского регистра.

Вероятность найти полностью и частично-совместимого донора, а также среднее количество доноров по 100 виртуальным регистрам в зависимости от числа доноров в виртуальных регистрах представлены на фигуре 8.

Вероятность найти полностью совместимого донора достигала 100% при включении в виртуальный регистр $3,5\times10^5$ доноров, а частично-совместимого донора - при включении 4×10^4 доноров. Среднее число доноров, которое удалось бы найти в виртуальных регистрах соотносимого с BMDS размера (125000) составило 0,83 и 16,42 для полностью и частично-совместимых доноров, что соотносится с результатами реального поиска.

При обследовании перед ТКМ сохранялась МОБ-негативная ремиссия заболевания. 07.06.19 установлен тунеллируемый катетер Hickman, выполнена люмбальная пункция, ликвор санирован.

Кондиционирование в режиме флюдарабин+бусульфан+АТГАМ проводилось с 10.06.19г. по 19.06.19г. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток выполнена 20.06.19 (в трансплантате 4×10^6/кг $CD34^+$ клеток). Иммуносупрессивная терапия в режиме циклофосфамид (50 мг/кг/сут +3+4 дни, суммарно 7500 мг), циклоспорин А 3 мг/кг/сут с +5 дня, микофенолата мофетил 3 г/сут с +5 дня.

Ранний посттрансплантационный период осложнился развитием сепсиса (Klebsiella oxytoca без продукции БЛРС), колита (вирус герпеса I-II типа), генерализованной вирусной инфекцией обусловленной HHV-6, CMV проводилась терапия меропенемом, амикацином, ацикловиром 15 мг/кг/сут, ганцикловиром в дозе 10 мг/кг/сут- с эффектом в виде регрессии очагов инфекции.

19.07.19 выполнена контрольная пункция костного мозга на +1 мес после алло-ТКМ: в миелограмме: бластные клетки 1,8%, м.к.ц. сниженное количество, красный ряд 33,8%, по данным молекулярного исследования примесь ДНК реципиента не обнаружена, по данным эритроцитарного химеризма отмечается появление 5% эритроцитов фенотипа донора. В гемограмме: лейкоциты 1,5 тыс, тромбоциты 35 тыс, гемоглобин 80 г/л. Была выписана из стационара под амбулаторное наблюдение.

На сроке +2 мес после алло-ТГСК в миелограмме: бласты 0,4%, по данным молекулярного исследования 100% донорское кроветворение. С 30.08.19 появился дискомфорт при мочеиспускании, по результатам исследования мочи выявлен ВК-вирус 1×10^8 коп/мл, вводился иммуноглобулин, проводилась терапия ципрофлоксацином, с эффектом.

В контрольный срок на +3 мес после алло-ТКМ (17.09.19): в миелограмме бластные клетки 1,6%. По данным молекулярного исследования примесь ДНК реципиента не

обнаружена. По данным исследования эритроцитарного химеризма 95% эритроцитов донора. Постепенно снижалась доза микофенолата мофетила, однако по данным б/х исследования крови отмечалось увеличение АСТ, АЛТ, ЩФ до 2-4 норм, в ОАК эозинофилия до 28%, снижение приостановлено, увеличена доза циклоспорина.

В контрольный срок на +6 мес после алло-ТГСК (02.12.19) сохранялась ремиссия заболевания, 100% донорское кроветворение.

С начала января 2020 отметила появление пигментации под глазами, на коже туловища, также появилась одышка, кашель при физической нагрузке, начата терапия монтелукастом, азитромицином, также ингаляции салметерол-флутиказон. 14.01.2020 выполнена бронхоскопия с БАЛ:

- DNA-CMV кол. - не обнаружено;
- DNA-EBV кол.- не обнаружено;
- DNA-HHV 6 кол. - не обнаружено.

Посев жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) 14.01.2020:

- Микроскопия с окраской по Граму - не обнаружено бактериальных клеток;
- Микроскопия с окраской по Цилю-Нильсену - не обнаружено кислотоустойчивых микроорганизмов;
- Микроскопия с окраской калькофлуором белым не обнаружен мицелий, характерный для плесневых грибов;
- Получен рост:
  - *Streptococcus salivarius* - 10^3 КОЕ/мл.
  - *Streptococcus mitis* - 10^3 КОЕ/мл.
- Антиген аспергилл (галактоманнан) - Индекс оптической плотности галактоманнана 0,095 (Положительный индекс галактоманнана: для крови ≥ 0,5; для жидкости БАЛ ≥ 1);

Определение качественное ДНК пневмоцист (ПЦР) (*БАЛ*) 14.01.2020: ДНК P. Jirovecii не обнаружено;

Исследование на легионеллы (культура) (*БАЛ*) 14.01.2020: Legionella spp - роста нет;

Определение антител IgM, IgG к микоплазме пневмонии (Mycoplasma pneumoniae) в крови 14.01.2020:

- Mycoplasma pneumoniae lg M 2,39 (< 0,8);
- Mycoplasma pneumoniae lg G 0,84 (< 0.8);

Определение антител к Chlamydia pneumoniae в крови lgM, lgG 14.01.2020:

- Chlamydia pneumoniae lg M 2,09 (< 0,8);
- Chlamydia pneumoniae lg G 0,90 (< 0,8);

Учитывая данные микробиологического исследования БАЛ, продолжена антибиотическая терапия азитромицином. По данным контрольного КТ исследования отмечается небольшая положительная динамика, по результатам спирометрии сохраняется нарушение бронхиальной проводимости по смешанному типу средней степени выраженности. В связи с этим поражение легких расценено как реакция трансплантат против хозяина, и с 15.02.2020 начата терапия преднизолоном в дозе 1 мг/кг.

Также с 27.01.2020 появился болевой синдром в области тазобедренного сустава справа, по МРТ костей таза: МР- признаки кортико-медуллярного инфаркта головки правой бедренной кости в состоянии исхода. Синовит. Консультирована врачом-ортопедом, рекомендовано ограничение физической нагрузки, терапия препаратами кальция, витаминами группы Д и ежемесячное введение золедроновой кислоты.

Через месяц терапии по результатам обследования проявления хронической РТПХ

с поражением легких с незначительной положительной динамикой, также отмечается улучшение состояния кожных покровов, с 07.03.2020 начато снижение преднизолона по Флауэрсу.

Учитывая незначительный ответ на хрРТПХ легких, с 20.07.20 начата терапия руксолитинибом. 15.09.20 отменена иммуносупрессивная терапия преднизолоном, продолжена терапия руксолитинибом, на этом фоне сохраняется ОФВ 1 59-61%, без отрицательной динамики. В конце сентября у пациентки однократно отмечался эпизод температуры до 38,0, боли в животе, которые самостоятельно регрессировали без какой-либо терапии, по месту жительства выполнено УЗИ брюшной полости: в 7-8 сегменте печени выявлено образование с капсулой размерами 52*41*40мм. При компьютерной томограмме органов брюшной полости с контрастным усилением обнаружены объемные образования в проекции надпочечников неясного генеза, вероятно, специфического характера с участками некроза в толще; справа - с вовлечением в процесс прилежащих отделов печени. ЛАП внутрибрюшных и забрюшинных лимфатических узлов.

Пациент З.Е.Ю., 03.04.1971

В феврале 2021 при прохождении диспансеризации в гемограмме впервые отмечались анемия до 98 г/л, тромбоцитопения. С конца марта отмечалось воспаление десен, субфебрилитет, проводился курс антибактериальной терапии с кратковременным эффектом. С 14.04.2021 пациентка обратилась к стоматологу по поводу воспаления десен нижней челюсти справа, в процессе лечения развилось выраженное десневое кровотечение. С 23.04.2021 развитие фебрильной лихорадки, появление кашля. 25.04.2021 с подтвержденной новой коронавирусной инфекцией госпитализирована в ФГБУ «КБ Управления делами Президента РФ», где при дообследовании в ОАК выявлены: анемия тяжелой степени (52 г/л), тромбоцитопения (15×10^9/л), нейтропения ($0,2\times10^9$/л), лейкоциты - $6,6\times10^9$/л. Течение новой коронавирусной инфекции осложнилось развитием двусторонней полисегментарной пневмонии, КТ1. На фоне проводимой терапии ГКС, антибактериальной и противовирусной терапии отмечалось улучшение общего самочувствия, нормализация температуры тела.

30.04.2021 по СМП была доставлена в ГКБ №52 с направительным диагнозом острый миелоидный лейкоз.

При обследовании в ГКБ №52 30.04.21:

- Миелограмма: Бластные клетки 87%;
- Иммунофенотипирование клеток КМ:

$CD45^{low+}CD34^{-}CD117^{-/+}CD13^{+}CD14^{-}CD36^{-}CD15^{-}CD33^{+}CD11c^{-}HLA\text{-}DR^{-}MPO^{+}$ соответствует ОМЛ, вариант М2;

- FISH исследование: Нормальный кариотип;
- Молекулярно-генетическое исследование: Экспрессия гена WT1 равна 11,27 %. Обнаружены мутация FLT-D835 с аллельной нагрузкой 0,36 %, мутация NPM mut-A с аллельной нагрузкой 44,75 %.

Таким образом, на основании проведенного обследования 30.04.2021 в ГБК №52 был установлен диагноз острый миелоидный лейкоз с нормальным кариотипом, протекающий с мутацией генов *NPM1*, *FLT3*-ITD(low), *WT1.*

С 01.05.21 по 07.05.21 в ГКБ №52 проведен первый курс ХТ по программе "7+3".Период агранулоцитоза осложнился *K.variicola* сепсисом от 10.05.21, проводилась антибактериальная терапия цефепим/сульбактамом, амикацином, имипенем/циластатином, ванкомицином, противогрибковая терапия флуконазолом. Также отмечались мено-метроррагии, на фоне гемостатической терапии окситоцином и

транексамовой кислотой кровотечение регрессировало.

После 1-го курса достигнута костномозговая ремиссия. МОБ составила 0,11%.

С 09.06.21 по 15.06.21 в ФГБУ "НМИЦ гематологии" МЗ РФ проведен второй курс ХТ по программе "7+3". Посткурсовой период осложнился фебрильной нейтропенией, проводилась антибиотическая терапия цефоперазон/сульбактамом, с эффектом. По данным контрольного обследования 13.07.21 (на 28 день после курса):

• Миелограмма: бластные клетки 3,2%;

• Мониторинг МОБ при ОМЛ: МОБ не выявляется.

Таким образом, после 2-го курса ХТ достигнута МОБ негативная ремиссия заболевания.

С 21.07.21 по 25.07.21 проведён курс третий курс ХТ по программе "FLAG", перенесла удовлетворительно. Период агранулоцитоза осложнился развитием *E. coli БЛРС* сепсиса от 04.08.21, проводилась терапия меропенемом, с эффектом. 23.08.21 (на 29-й день после курса) выполнена контрольная пункция костного мозга:

• Миелограмма: бластные клетки 3,6%,

• Мониторинг МОБ при ОМЛ: МОБ не выявляется.

Таким образом, после 3-го курса ХТ сохранялась МОБ негативная ремиссия заболевания.

С 13.10.21 по 17.10.21 проведен четвёртый курс ХТ по программе "FLAG" (в редуцированных дозах).

Учитывая МОБ позитивный статус после 1-го курса ХТ, больной в качестве одного из этапов лечения было запланировано выполнение алло-ТГСК.

Было выполнено HLA-генотипирование, определен генотип по 5 локусам гена *HLA*: *HLA-A*26-A*29-B*38-B*44-C*12-C*16-DRB1*07-DRB1*11-DQB1*03-DQB1*03.* При поиске в BMDS для пациентки были найдены 0 полностью и 6 частично-совместимых доноров (при этом четверым из них HLA-типирование было выполнено по 3 локусам гена *HLA*).

Вероятность найти полностью и частично-совместимого донора, а также среднее количество доноров по 100 виртуальным регистрам в зависимости от числа доноров в виртуальных регистрах представлены на фигуре 9.

Вероятность найти полностью совместимого донора составляла 0%, а частично-совместимого донора достигала 100% при включении в регистр 2×10^5 доноров. Среднее число доноров, которое удалось бы найти в виртуальных регистрах соотносимого с BMDS размера (125000) составило 0 и 3 для полностью и частично-совместимых доноров. Эти числа соотносятся с результатами реального поиска в BMDS, учитывая, что для большей части найденных частично-совместимых доноров HLA-типирование было выполнено по 3-м локусам гена *HLA*.

Из-за отсутствия полностью совместимых доноров и низкого числа частично-совместимых доноров, решено было провести трансплантацию от гаплоидентичного донора.По результатам контрольного обследования перед алло-ТГСК:

• ЛП №4 от 30.11.21: Цитоз 0,6 кл/мкл, Бластные клетки 0%;

• Миелограмма от 06.12.21: Бластные клетки 1,2%;

• Мониторинг МОБ при ОМЛ: МОБ не выявляется.

С 08.12.21 по 14.12.21 проводилось кондиционирование в режиме "Флударабин + Бусульфан".

15.12.21 выполнена алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора (сына), перелито суммарно 6×10^6/кг $CD34^+$ клеток, трансфузию перенесла удовлетворительно.

Период МТА осложнился развитием *Pseudomonas aeruginosa* сепсиса от 26.12.21,

острой анальной трещиной, в связи с чем проводилась антимикробная терапия цефоперазоном/сульбактамом, амикацином, меропенемом, с эффектом в виде полной регрессии инфекционных осложнений.

На сроке +2 месяца после алло-ТГСК - бластные клетки 0,8%, м.к.ц. единичное количество, красный ряд 12,4%.

На сроке +3 месяца после алло-ТГСК (21.03.22) - бластные клетки 1,6%, красный ряд 36,4%, м.к.ц. сниженное количество. 100% донорское кроветворение.

01.06.2022 выполнена ПКМ на сроке +6 месяцев после алло-ТГСК: в миелограмме бластные клетки 0%, м.к.ц. единичное количество, красный ряд 17,6%. Сохраняется 100% донорское кроветворение.

Начато проведение профилактических люмбальных пункций:

ЛП №1 (01.06.22), ликвор санирован. белок - 0,22 г/л, цитоз 17,7 кл/мкл, представлен лимфоцитами 96%, моноцитами 4%.

ЛП №2 (29.07.22), ликвор санирован. Белок - 0,3 г/л, цитоз 1,6 кл/мкл.

ЛП №3 (19.09.22), ликвор санирован. Белок - 0,27 г/л, цитоз 6,5 кл/мкл (представлен лимфоцитами 93%, мононциты 6%, нейтрофилы 1%)

ЛП №4 (23.12.22), ликвор санирован. Белок - 0,31 г/л, цитоз 3,1 кл/мкл.

На сроках +9, +12 месяцев после алло-ТГСК сохраняется ремиссия заболевания, 100% донорское кроветворение.

Описание чертежей:

Фиг 1 - Иллюстрация номенклатуры генов HLA согласно ВОЗ.

Фиг 2 - Компьютерная система которая включает дисплей 1, экран 2, системный блок 3, клавиатуру 4.

Фиг 3 - Блок-схема работы компьютерной системы 1, используемой для выполнения прикладной программы в соответствии с вариантом реализации изобретения.

Фиг 4 - Иллюстрация результатов соотнесения подборов совместимых пар для «Выборки 2» в виртуальных списках и «Выборке 1». А, В, Д - соотнесения числа подобранных доноров для 10/10, 9/10 и 8/10 совпадений соответственно. Б, Г, Е - ROC-анализ для 10/10, 9/10 и 8/10 совпадений соответственно.

Фиг 5 - Иллюстрация вероятность найти донора в МР разных размеров для трех пациентов.

Фиг 6 - Иллюстрация вероятность найти доноров для совокупности пациентов.

(57) Формула изобретения

1. Способ оценки наличия неродственных доноров в виртуальном регистре произвольных размеров с прогнозированием возможности нахождения полностью или частично совместимого донора костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток для пациентов с известным набором аллелей локусов генов HLA, включающий забор периферической крови пациента, получение данных о наборе аллельных групп локусов гена HLA доноров с помощью молекулярно-биологических методов, объединение результатов HLA-генотипирования в объектно-ориентированную базу данных при помощи прикладного программного обеспечения, после чего осуществляют выборку результатов об исследованных аллельных группах локусов гена HLA, определяют из выборки результатов HLA-типирования доноров все возможные пары гаплотипов, из которых состоит генотип, определяют частоту встречаемости отдельных гаплотипов, рассчитывают среднее значение частоты встречаемости для каждого гаплотипа, исключают гаплотипы, частота встречаемости которых составляет меньше заданной частоты встречаемости, и формируют электронную таблицу гаплотипов с частотами

встречаемости выше заданной, совокупная частота встречаемости гаплотипов при этом становится менее 1, после чего она корректируется согласно формуле

$$p_t^{corrected} = \frac{p_t}{\sum_{i=1}^{h_{corrected}} p_i},$$

где p_i - частота встречаемости гаплотипа i,

$p_t^{corrected}$ - скорректированная частота встречаемости гаплотипа t,

p_t - рассчитанная частота встречаемости гаплотипа t,

$h_{corrected}$ - число гаплотипов с частотой встречаемости выше заданной,

далее генерируют виртуальные списки пар гаплотипов для сравнения с аллелями генотипа пациента, сформированные списки выборки случайных гаплотипов соотносят с данными о генотипе пациента, подсчитываются для каждого из виртуальных списков генотипов число генотипов с различными значениями максимально допустимого числа несовпадений аллельных групп между генотипами пациента и генотипами из виртуальных списков, на основании полученных результатов соотнесения генотипа пациента с генотипами из виртуальных списков осуществляют прогнозирование вероятности найти доноров и среднее число найденных доноров.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что выборка результатов об исследованных аллельных группах локусов гена HLA используется для проведения итоговой оценки.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что частота встречаемости отдельных гаплотипов определяется при использовании модельного алгоритма кластеризации.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что среднее значение частоты встречаемости для каждого гаплотипа рассчитывается по формуле

$$p_t = \frac{\sum_{i=1}^{n_{runs}} p_{t(i)}^{(G)}}{n_{runs}},$$

где p_t - среднее значение частоты встречаемости гаплотипа t по n_{runs} независимым запускам,

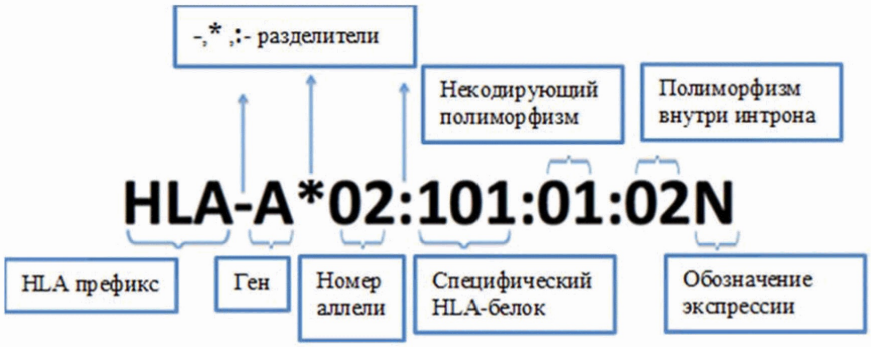
$p_{t(i)}^{(G)}$ - частота встречаемости гаплотипа t в i-м независимом запуске, завершившемся на итерации G.

5. Способ по п. 4, отличающийся тем, что результат работы алгоритма кластеризации по определению среднего значения частоты встречаемости отдельных гаплотипов оформляется в промежуточную электронную таблицу, содержащую отдельные гаплотипы и средние значения частоты их встречаемости.

6. Способ по п. 3, отличающийся тем, что результат работы алгоритма кластеризации оформляется в промежуточную электронную таблицу, которая содержит информацию о всех гаплотипах с указанием соответствующей частоты встречаемости гаплотипов, скорректированной в соответствии с заданными показателями.

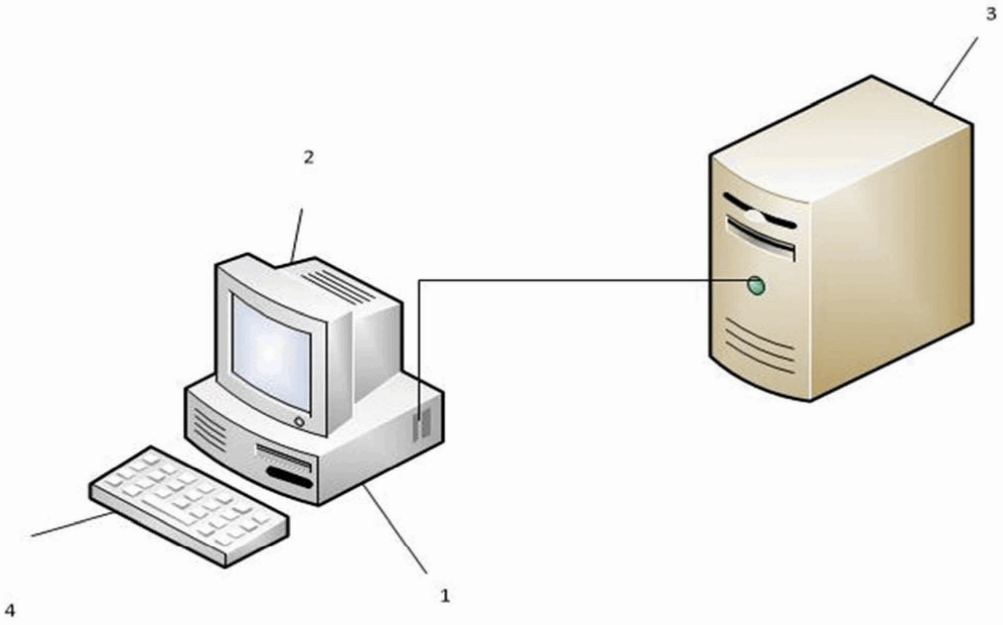
7. Способ по п. 1, отличающийся тем, что оценку наличия неродственных доноров в виртуальном регистре произвольных размеров осуществляют при помощи прикладного программного обеспечения в компьютерной системе.

1


-,* ,:- разделители
Некодирующий полиморфизм
Полиморфизм внутри интрона
HLA-A*02:101:01:02N
HLA префикс
Ген
Номер аллели
Специфический HLA-белок
Обозначение экспрессии

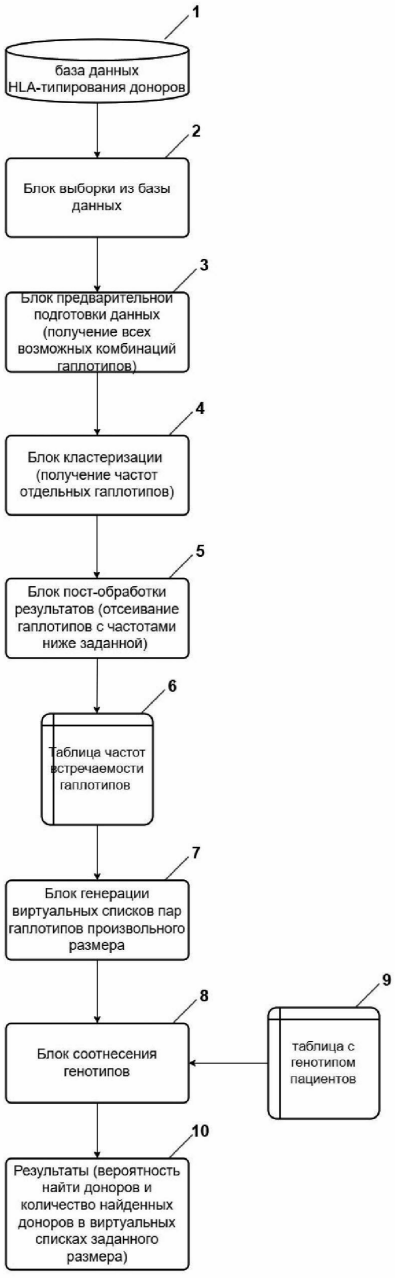
ФИГ.1

2



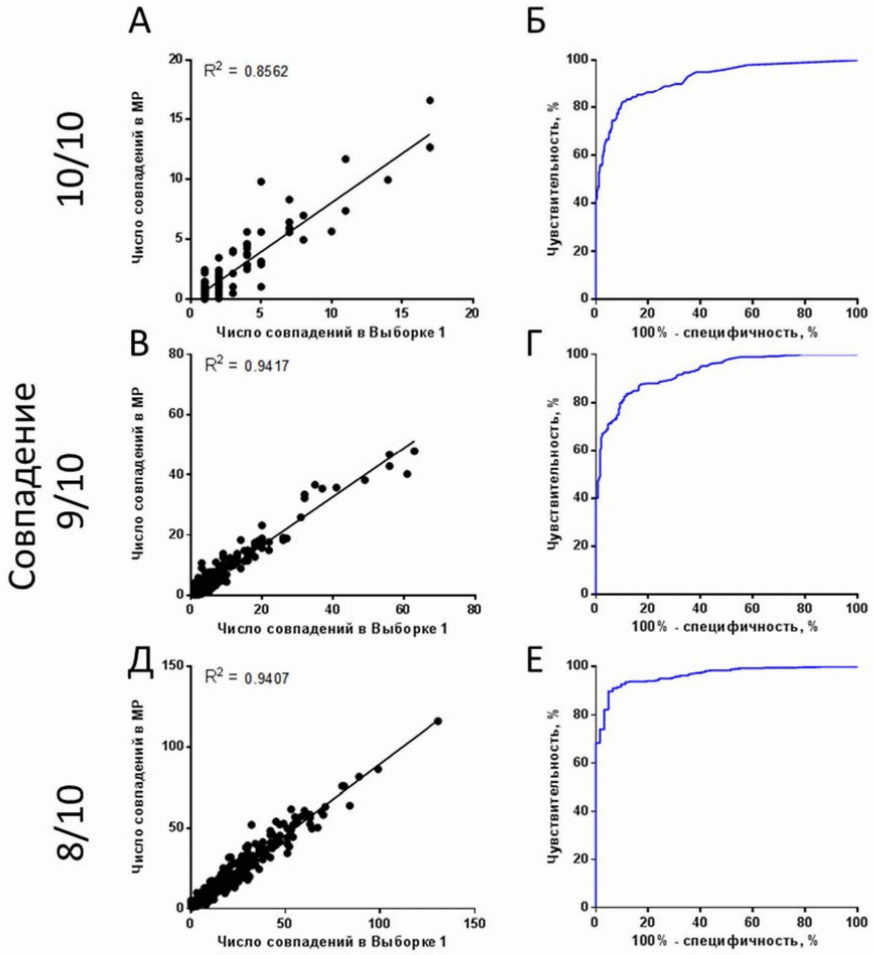
ФИГ.2

3

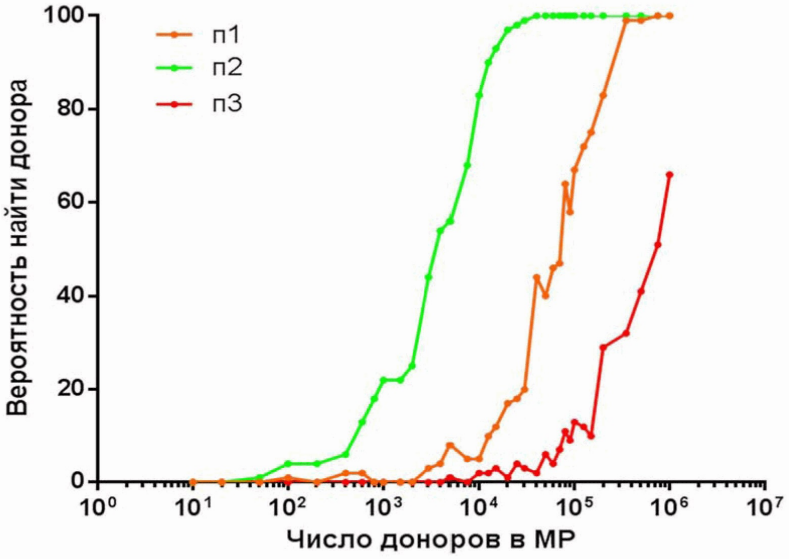

1
база данных HLA-типирования доноров
2
Блок выборки из базы данных
3
Блок предварительной подготовки данных (получение всех возможных комбинаций гаплотипов)
4
Блок кластеризации (получение частот отдельных гаплотипов)
5
Блок пост-обработки результатов (отсеивание гаплотипов с частотами ниже заданной)
6
Таблица частот встречаемости гаплотипов
7
Блок генерации виртуальных списков пар гаплотипов произвольного размера
8
Блок соотнесения генотипов
9
таблица с генотипом пациентов
10
Результаты (вероятность найти доноров и количество найденных доноров в виртуальных списках заданного размера)

ФИГ.3

4

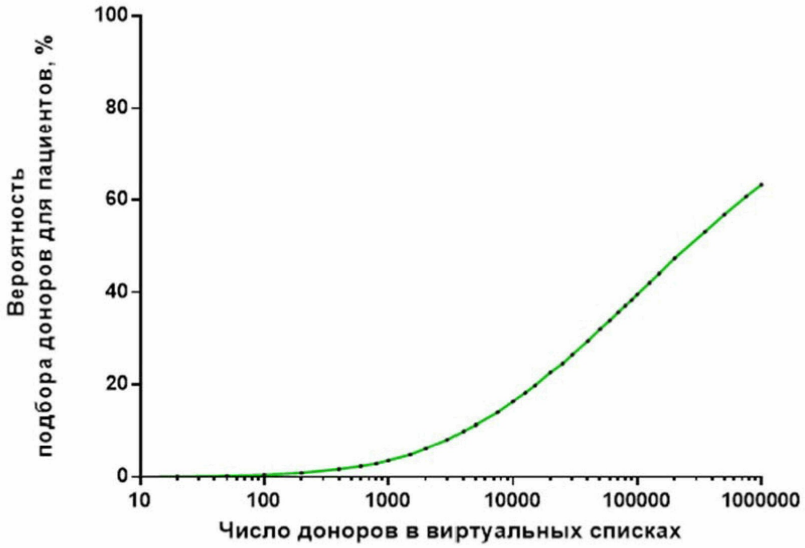

Совпадение
10/10
9/10
8/10
А
Б
В
Г
Д
Е
R² = 0.8562
R² = 0.9417
R² = 0.9407
Число совпадений в МР
Число совпадений в Выборке 1
Чувствительность, %
100% - специфичность, %

ФИГ.4


100
80
60
40
20
0
п1
п2
п3
Вероятность найти донора
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
10^7
Число доноров в МР

ФИГ.5

6


Вероятность подбора доноров для пациентов, %
100
80
60
40
20
0
10
100
1000
10000
100000
1000000
Число доноров в виртуальных списках

ФИГ.6